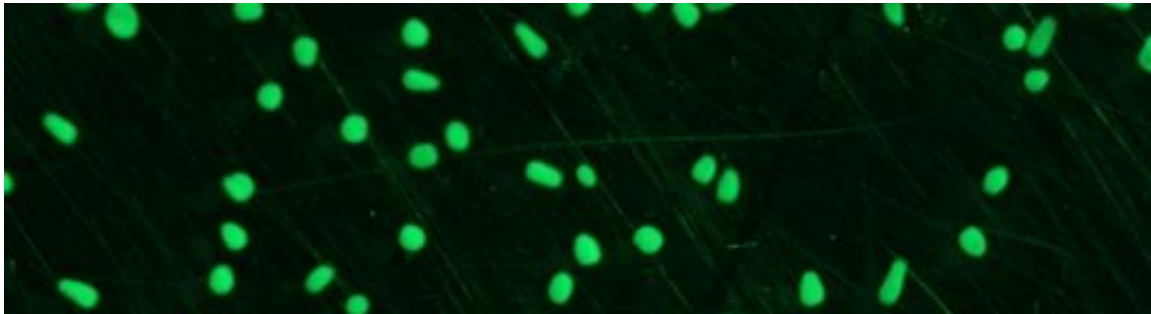


Tracken van biologische cellen in fluorescentie microscopie

1. Inleiding

Onderzoek naar het migratiegedrag van biologische cellen krijgt de afgelopen jaren meer en meer aandacht. Bij veel ziekten is het immers zo dat de oorzaak te wijten is aan onverwacht celgedrag. Denk maar aan bepaalde vormen van kanker waarbij cellen zich te snel delen en zich ontwikkelen tot tumoren. Een ander voorbeeld is de ziekte van Alzheimer waarbij hersencellen een tekort aan energie hebben. Hierdoor hebben ze een opvallend statisch migratiegedrag en sterven ze sneller af. De lagere hoeveelheid hersencellen resulteert dan in een afgezwakt korte- of langetermijn geheugen. Analyse van biologische cellen is bijgevolg een belangrijk onderwerp dat zelfs levensbeslissende conclusies kan hebben.

Fluorescentie microscopie is een belangrijke vorm van microscopie die het mogelijk maakt om gericht deze biologische structuren zichtbaar te maken. Onderzoekers behandelen stalen met een welbepaalde fluorescente marker die oplicht wanneer het staal wordt belicht met lichtstralen van een specifieke golflengte. Op die manier kunnen cellen heel duidelijk weergegeven worden. Dankzij de recente technologieën is het zelfs mogelijk om real-time cellen waar te nemen in time-lapses.



Figuur 1: Voorbeeld van een fluorescentie microscopie frame waarin de cellen doorheen de frames dienen getrackt te worden.

Analyse van deze time-lapses is een uitdagend werk vanwege de grote hoeveelheid data. Vandaar dat er geijverd wordt naar automatische beeldverwerkingstechnieken die dit proces kunnen versnellen. Dit project doelt op het ontwikkelen van een cell tracking algoritme en de afleiding van enkele statistieken (bv. grootte en snelheid van de cel) die de biologische analyse zouden vereenvoudigen en versnellen.

Materiaal dat ter beschikking staat:

Referenties:

- [1] Enric Meinhardt-Llopis, Javier Sanchez and Daniel Kondermann, Horn-Schunck optical flow with a multi-scale strategy, *Image processing online*, 3 (2013), pp. 151-172.
- [2] B. K.P. Horn, B. G. Schunck, 'Determining optical Flow', *Elsevier Artificial Intelligence*, 17 (1981), pp. 185-203.
- [3] E. Meijering, 'Cell Segmentation: 50 Years Down the Road', *IEEE Signal Processing Magazine* (2012)

Code:

- Het Matlab script "hornschunck.m" dat een eenvoudige versie implementeert van het Horn-Schunck optical flow algoritme.

Data:

- Een fluorescentie microscopie videosequentie van 387 frames, deze data is te vinden onder http://telin.ugent.be/~jbroels/beeldverwerking/cell_tracking/. Extra data kan verkregen worden op aanvraag.

2. Opgave

2.1 Bewegingsschatting via optical flow

Optical flow algoritmen schatten het bewegingsveld dat één beeld transformeert in een ander. Wanneer deze twee beelden opeenvolgende momentopnames zijn van een bewegend object, dan kan dit bewegingsveld geïnterpreteerd worden als een schatting van de fysische beweging van dit object. De bijgeleverde artikels beschrijven het Horn-Schunck algoritme voor schatting van optical flow. De bijgeleverde code bevat een basisimplementatie van het algoritme. De volgende opgaven zijn een goed startpunt voor het gebruik van optical flow voor cell tracking.

- Bestudeer het bijgeleverde algoritme. Gebruik het om de beweging tussen twee frames van een van de bijgeleverde datasets te schatten. Beschrijf het effect van elke parameter. Komt de werking van het algoritme overeen met je intuïtie? Waarom wel/niet?
- Implementeer een geautomatiseerd optical flow algoritme. Zorg dat elke parameter automatisch een waarde wordt toegekend zonder dat het algoritme inboet aan algemene bruikbaarheid. Merk op dat het bijgeleverde algoritme iteratief is en er nog geen stopconditie geprogrammeerd is, implementeer een stopconditie. Motiveer je keuze.
- Bemerkt dat het algoritme faalt wanneer er een grote beweging zit (zoals bvb. bij een te grote tijdssprong) tussen twee momentopnames. Pas het algoritme aan zodat het kan omgaan met grote bewegingen (je kan dit simuleren door frames te laten vallen uit de videos). Je kan je hiervoor laten inspireren door het pyramidale optical flow algoritme [1].
- Creëer twee synthetische beeldensets, één waarvoor je uiteindelijk optical flow algoritme correct werkt, en één waarvoor het niet werkt. Geef aan de hand hiervan een voordeel en een nadeel van de optical flow method voor de specifieke toepassing van cell tracking.

2.2 Cell detectie

Nu we weten hoe we beweging in het beeld kunnen schatten, moeten we dit bewegingsveld zien te associëren met een notie van individuele cellen.

- De bijgeleverde paper [3] beschrijft een overzicht van veel gebruikte cel segmentatietechnieken. Implementeer nu zelf een method om cellen te detecteren.

2.3 Cell tracking

Het is de bedoeling om het gedrag van cellen doorheen de tijd te schatten. Daarvoor moeten gedetecteerde cellen geassocieerd worden met de geschatte bewegingen in de tijd.

Implementeer een methode om het tijdsgedrag van een cel (gedetecteerd via het algoritme uit opgave 2.2) te volgen doorheen de hele videosequentie. Het is daarbij belangrijk op te vangen dat cellen kunnen splitsen (celdeling), in of uit beeld kunnen komen, enz. doorheen de tijd. Gebruik hiervoor ook de schattingen van objectbeweging verkregen uit de opgave 2.1. Het is de bedoeling om te eindigen met een automatisch analysehulpmiddel dat een dataset als input krijgt en een reeks descriptors teruggeeft voor elke cel. Die descriptors moeten zaken uitdrukken zoals de positie van zwaartepunt doorheen de tijd, de snelheid doorheen de tijd, ...

2.4 Statistische analyse

Biologen zijn vooral geïnteresseerd in statistieken van celgedrag. Maak nu gebruik van je automatisch analysehulpmiddel van de bijgeleverde datasets om de volgende statistieken te berekenen.

- Bepaal de gemiddelde grootte en snelheid van een cel.
- Ga na of er een significante afhankelijkheid bestaat tussen de grootte en de snelheid van een cel